

PARTIAL TRANSLATION OF JAPANESE EXAMINED
PATENT PUBLICATION (KOKOKU) NO. 05-037269
(REFERENCE 1)

Title of the Invention: MEASUREMENT METHOD OF SUBSTRATE
CONCENTRATION IN FLUID
Publication Date: January 8, 1987
Patent Application No.: 60-142003
Filing Date: June 28, 1985
Applicant: NOK CORPORATION

[Extract from description]

[on page 2, in column 4, line 34 to page 3 in column 5,
line 10]

As shown in Fig.1a and 1b, two Si monocrystalline substrates surfaces (in planar direction 100) are processed by an anisotropic etching technology so that the one becomes to a channel cope 1 and the other becomes to a channel drag 2.

A curved channel of the present invention are formed by bonding these processed surfaces of the two substrates oppositely.

Then, an inlet 3 is processed on channel drag 2, an outlet 4 is processed on channel cope 1 so that the both channels connect in the center of the substrate when the channel cope and the channel drag face.

The section of the channel formed by bonding a channel cope 1 and channel drag 2 oppositely is shown in Fig. 1a. When the fluid which flow this channel goes from drag channel 3' to cope channel 4', the channel is bend so that the fluid contact with a top face of the channel cope at angles more than 50 degrees.

The window is open at the wall which the flow of this fluid bends and contacts and glucose sensor 6 placed on glass substrate 5 is fixed so that glucose sensor 6 looks into from the rear face.

[Figs.1 and 2]

- 1: a channel cope
- 2: a channel drag
- 3: an inlet
- 4: an outlet
- 5: a glass substrate
- 6: a glucose sensor
- 7: an enzyme immobilizing membrane
- 11: a carrier liquid
- 12: a sample liquid
- 13: an injection valve
- 14: a sampling tube
- 15: a detection cell

(Note: In order to save on translation costs, we have prepared a brief partial translation of this reference at this time. However, if you would like to have more details on the contents of this reference, we can prepare a full English translation thereof. Therefore, please instruct us to do so, if necessary.)

⑫ 特 許 公 報 (B 2)

平5-37269

⑬ Int. Cl.⁵
G 01 N 27/28識別記号 庁内整理番号
3 2 1 G 7235-2 J

⑭ 公告 平成 5 年(1993) 6 月 2 日

発明の数 1 (全 6 頁)

⑮ 発明の名称 流体中の基質濃度の連続的測定方法

⑯ 特 願 昭60-142003

⑰ 公 開 昭62-2150

⑱ 出 願 昭60(1985) 6 月28日

⑲ 昭62(1987) 1 月 8 日

⑳ 発 明 者 森 泉 豊 栄 東京都世田谷区奥沢 3 の22の 6

㉑ 発 明 者 高 津 一 郎 神奈川県横浜市戸塚区汲沢 1 の23の 5

㉒ 出 願 人 エヌオーケー株式会社 東京都港区芝大門 1 丁目12番15号

㉓ 代 理 人 弁理士 吉田 俊夫

審 査 官 嶋 矢 督

㉔ 参 考 文 献 特開 昭58-180942 (JP, A) 特公 昭58-26968 (JP, B 2)

1

㉕ 特許請求の範囲

1 二枚の板状体の各内面に対応する傾斜凹凸面を形成させ、かつ同二枚の板状体を隙間において対接させて組み合わせることにより、内部に傾斜屈曲した流路を形成し、その傾斜屈曲した流路の端部にセンサーを配設して、流路に流される流体を前記センサーに傾斜して吹き付けるごとくして接触させ、流体中の基質濃度を測定することを特徴とする流体中の基質濃度の連続的測定方法。

2 傾斜屈曲した流路がSi単結晶基板(100面)を異方性エッチング加工して形成されたものである特許請求の範囲第1項記載の流体中の基質濃度の連続的測定方法。

3 傾斜屈曲した流路に流される流体が50°以上の角度をもってセンサーに接触する特許請求の範囲第1項又は第2項記載の流体中の基質濃度の連続的測定方法。

発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、流体中の基質濃度の連続的測定方法に関し、特に基質濃度を測定すべき流体を流路に流し、その基質濃度をその変化に即時に追従させながら、連続的に検出器で測定する方法に関する。

(従来の技術及び発明が解決しようとする問題点)

2

従来より、液体中の化学的情報、即ちpH、各種基質の濃度、色や蛍光の光学的特性などの測定は、主として断続的に行なわれてきた。

また、これらの測定用検出器についても、液体中で用いられることを前提とした各種センサーの開発及び小型化の研究も各方面で行なわれているが、いずれもその殆どは液体中の光学的情報を断続的にある一点で検出しようとするものであった。

一方、コンピューターなどの情報処理システムの目覚ましい発達で、大量の情報を高速で処理することが可能となり、これに応じてその情報源である各種センサーにも、高速かつ連続的な測定性能が求められるようになってきているが、いうまでもなく、これに加えて、量産性やコストなどの面から、その小型化も重要な開発テーマの一つとなっている。

最近では、近年発達の著しいLSIプロセス技術を各種センサー製作プロセスに応用することで、こうした諸要求をみたすものが実用化されており、その主なものとしては、半導体、薄膜あるいはセラミックスなどを利用した圧力、温度、光、磁力などのセンサーが挙げられる。

しかしながら、前述の液体中の化学的情報を検出するためのセンサーについては、その小型化の研究は進められているものの、小型でかつ連続

的な測定を可能にしようとするような研究は殆ど行われていないのが実情である。そして、液体の連続的測定方式そのものを小型化するためには、センサーのみを小型化するだけでは無意味であり、試料液体の連続注入システム（フローインジェクションシステム）とセンサーとを一体化した上で小型化する必要がある。

従来から、液体を連続的かつ効率よく測定するためには、試料液体をセンサーの検出面に対して約45°の角度の方向より注入してやる必要のあることが分かっている。これは、一様な流れの中に、流路を塞ぐことなくセンサーを配置しようとすると、液体のもつ粘性のために、センサーの表面に極めて薄い液体の不動層が形成され、このために試料濃度が刻々と変動するような場合には、センサー表面での試料液体の更新が生じ難く、センサーとしての応答性が悪くなる問題があるため、その対策として上記のごとく45°の角度で処理することによって不動層の発生を解消し、常に新しい液体試料がセンサー面と接触するようになるのである。

第3図には、そのようなセンサーの一例が示されており、H₂O₂電極、pH電極などのセンサー21上に設置された選択性透過膜、酵素固定膜などの機能膜22の検出面に対し、試料液体はこれに対して45°の角度に穿設された注入口23から注入され、同様の角度の排出口24から排出されるような3次元的な構造を有する注入セルが示されている。

このような構造の注入セルは、その製作に高精度加工が要求されるばかりでなく、センサー自体の小型化が必ずしもシステム全体の小型化につながらないので、連続測定システムの小型化、低コスト化はこうした観点からは達成することができない。

本発明者らは、先に、こうした45°という液体試料の注入角度設定を不要とする方法の一法として、センサー近傍に超音波振動を与えて試料液体の不動層発生を阻止することによって、液体試料中の基質濃度を的確に連続測定することを可能とする方法を提供した（特願昭60-41976号）。

（問題点を解決するための手段）

本発明者は、更に不動層発生を解消する測定方法について研究を進めた結果、液体試料の流路

を、内面に傾斜凹凸面を有する二枚の板状体を対接させて組み合わせることにより、内部に屈曲した流路として形成し、その屈曲部にセンサーを配設して、流路に流される流体中の基質濃度を連続的に測定する方法を開発した。

本発明はすなわち、二枚の板状体の各内面に対応する傾斜凹凸面を形成させ、かつ同二枚の板状体を隙間をおいて対接させて組み合わせることにより、内部に傾斜屈曲した流路を形成し、その傾斜屈曲した流路の端部にセンサーを配設して、流路に流される流体を前記センサーに傾斜して吹き付けるごとくして接触させ、流体中の基質濃度を測定することを特徴とする流体中の基質濃度の連続的測定方法、である。

こうした傾斜屈曲した流路の製作は、二枚の板状体の各内面を傾斜した凹又は凸面を形成するように蝕刻あるいは切削し、それらを一枚の凸面に他の一枚の凹面が一定の流路間隔を置いて対接させて組み合わせることによって、容易に実施することができる。

センサーによる測定は、流路に流される流体が約50°以上の角度をもってセンサーに接触するようにして行えば、常に新鮮な流体の基質濃度を測定することができるのである。

そして検出器は二枚の板状体分程度の厚さで構成できるため、非常に薄型なものとなる。

更に流路の製作については、昨今のLSIプロセスを利用するSi単結晶の異方性エッチング加工を応用すれば、非常に効果的に実施することができ、その結果検出器と一体化された注入セルを非常に小型なものとすることができる。

(2) 本発明の具体的な方法の一例について述べる。

第1図a, bに示すごとく、2枚のSi単結晶基板面（面方向は100）を異方性エッチング技術により、1枚は流路上型1、他の1枚は流路下型2となるように加工する。

流路の形成はこれら2枚の基板の加工面を対向接着することにより本発明の屈曲流路を形成する。

このとき流路は注入口側3は流路下型2に、排出口側4は流路上型1にそれぞれ加工されており、かつ、上、下型が対向した時、両型中の流路が基板ほぼ中央で連絡するような配置になつてい

る。

上下型を対向接着して形成した流路の断面は図 1 a のようになっており、この流路を流れる流体が下型流路 3' から上型流路 4' に向かう時に流路が屈曲され、上型の流路上面に 50°以上の角度で接触することになる。この流体の流れが屈曲して接触する壁部には窓が開いており、裏面より、例えばガラス基板 5 上に配設されたグルコースセンサー 6 が覗くように固定されている。

ここで異方性エッチングについての概略を述べる。その原理は、単結晶のエッチング加工において、エッチング速度が結晶面の面方向依存性を有することを利用して特定形状のエッチング断面を得ることにある。例えば Si 単結晶面 (100 面) を適当なエッチャントでエッチングすればそのエッチング側面は加工面に対し常に 55°の傾斜を形成することとなる。

その工程は

- ① Si 単結晶表面に酸化皮膜形成
- ② 酸化皮膜をフォトリソグラフィ工程によりパターンニング (フォトエッチング)
- ③ 10~44% KOH 80°でエッチング (異方性エッチング)

④ 洗浄

からなり、工程①、②は LSI プロセスで用いられる手法と同様の工程であるため、高精度、微小加工ができるのである。

またグルコースセンサーについては、これはガラス基板 5 上に H₂O₂ 電極 (白金電極) 6、即ちアノードとして白金薄膜、カソードとして銀薄膜が適宜なパターンに形成されたものであり、これら電極部の少なくとも試料流との接触部にはグルコースオキシターゼを固定化した酵素固定化膜 7 が形成されている。

なお、測定用流体としては、主に血液や尿等を対象としているが、その中の基質濃度の測定においては各種被測定基質の種類に応じて適当な酵素と電極を組み合わせ構成した酵素センサーが用いられる。その主な組み合わせを表 1 に示すが、更にこれら異なる種類の酵素センサー複数個を同一基板上に形成することにより、同時に複数種の基質濃度を検出、測定することができる。また、各電極の代わりに半導体を用いたイオン感応型 FET (ISFET) を用いれば更に小型なものが得られる。

表

1

方法	被測定物質	固定化酵素	組み合わせ電極	感応物質
アンペロメトリー	グルコース	グルコースオキシダーゼ	隔膜酸素電極	O ₂
	過酸化水素	カタラーゼ	(クラーク型酸素電極)	//
	尿酸	ウリカーゼ	//	//
	しよ糖	{ インペルターゼ ムタロターゼ グルコースオキシダーゼ	//	//
	遊離コレステロール	コレステロールオキシダーゼ	//	//
	グルコース	グルコースオキシダーゼ	白金電極	H ₂ O ₂
	L-アミノ酸	L-アミノ酸オキシダーゼ	//	//
ポテンシオメトリー	エタノール	アルコールデヒドロゲナーゼ	白金電極	補酵素
	グルコース	グルコースオキシダーゼ	//	酸化還元色素
	尿素	ウレアーゼ	アンモニウムイオン電極	NH ₄ ⁺
	L-アミノ酸	L-アミノ酸オキシダーゼ	//	//
	尿素	ウレアーゼ	炭酸イオン電極	HCO ₃ ⁻
L-アミノ酸	L-アミノ酸	{ L-アミノオキシダーゼ ペルオキシダーゼ	よう素イオン電極	I ⁻

方法	被測定物質	固定化酵素	組合わせ電極	感応物質
	アミグダリン	β -グルコシダーゼ	シアニオン電極	CN^-
	ペニシリン	ペニシリナーゼ	水素イオン電極	H^+
	中性脂質	リパーゼ	//	//

(2) 上記構成の検出セルは第2図aのごとき測定システム中で用いられるがこのシステムは下記のように作動する。

① まず、測定前においてはキャリア液11がポンプP1によりインジェクションバルブ13を経て検出セル15中を流れている。一方、試料液12はポンプP2によりインジェクションバルブ13に接続されたサンプリグチューブ14中を滴下しており、測定時インジェクションバルブ13を操作することにより、瞬時にその流路が第2図bのように切り替わり、サンプリグチューブ14中の試料液12がキャリア液11に運ばれ、検出セル15へ達する。

② 検出セル15では、第1図図示のごとく注入口3より注入された試料流は下型流路3'を経て上型流路4'へと流れる。

③ この際において、試料流は下型流路3'から上型流路4'へと屈曲され、流体は上型流路4'の上壁、即ちグルコースセンサー6の検出面に打ち当たることになる。

ところで、Si単結晶の(100)面を異方性エッチング加工することによって流路を形成すると、その流路側面の傾きは基板面に対し約55°となるが、下型流路から上型流路へ向かう試料流体もほぼ同程度の角度で検出面に打ち当たることになる。従って検出面での液体の不動層の発生を抑制することができ、45°方向からの試料注入法とほぼ同程度の効果を得ることができる。

④ この時、検出面では例えば検出器がグルコースセンサーの場合には、試料流体中にグルコースが基質として存在すると、下記の反応が起こり、酸素が消費されてグルコン酸(ラクトン)と H_2O_2 とが生成される。

$\text{グルコース} + \text{O}_2 \rightarrow \text{グルコン酸} + \text{H}_2\text{O}_2$ これは、電極面上の膜7に固定された

グルコースオキシターゼの酸化触媒としての働きによるものである。

⑤ 両電極間には0.6Vの直流電圧が印加されており、この H_2O_2 の発生により、その発生量に応じて、それぞれ次のような反応が生じ、

〔アノード側〕 $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}^+ + \text{O}_2 + 2\text{e}^-$

〔カソード側〕 $2\text{e}^- + 2\text{H}^+ + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

外部回路へ微小電流変化として検出される。このようにして、試料流体中のグルコース濃度を電気的に連続的に取り出すことができるのである。

更に、第1図bに他の実施例を示すが、この場合は、下型流路3'を流れてきた試料流が屈曲されて基板面に対し50以上°の方向で上部検出器6の検出面に接触した後更に屈曲されて排出口4へ流れて行く。したがって、この例では検出器6の検出面付近の流れに大いに屈曲され、よって検出面付近の流れが大いに乱され、新鮮な試料流が接触流通することとなる。

(発明の効果)

本発明は、以上の構成により次のような作用効果を奏する。

① 本発明に係る検出器セルは、二枚の板状体の各内面に対応する傾斜凹凸面を形成させ、かつ同二枚の板状体を隙間において対接させて組み合わせることにより構成できるため、流路パターンを小型化しかつ非常に簡単に製作できる。そしてセンサーに対する測定対象物流体の接触は傾斜して吹き付けるごとく行われるため、常に流体は更新されてセンサーに接触し、よって連続的に流体の測定を正確に実施することができる。

② 流路材質にSi単結晶を用いたばあいには、更にSiの半導体としての性質を利用すれば流路基板上に各種センサーや周辺集積回路を形成す

ることも可能である。

- ③ 流路の加工にLSIプロセスと同様の工程を用いることができるため、小型で高精度な加工ができ更に多数個同時加工が可能である。

図面の簡単な説明

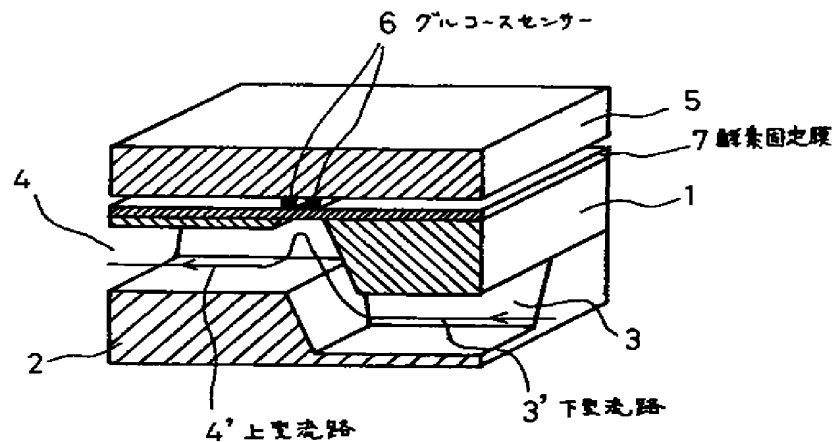
第1図 a は本発明の実施例で用いられる検出セルの斜視図、b は他の実施例の斜視図、第2図 a は測定システム概略図、b は測定時インジェクシ

ョンバルブの流路、第3図は従来の測定方法を示す。

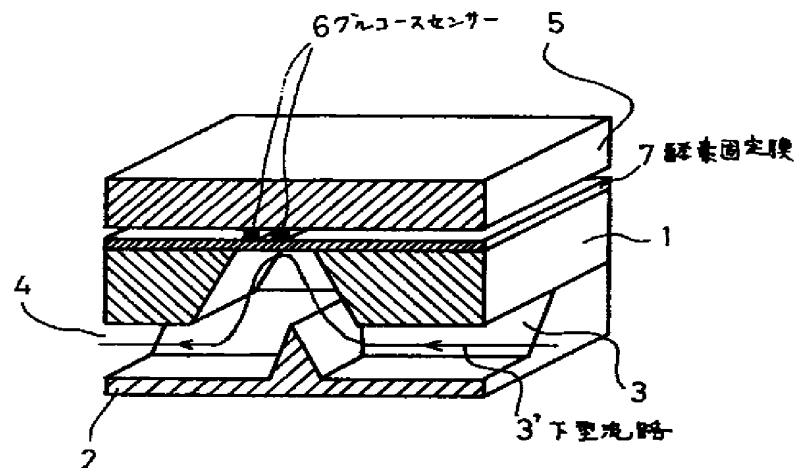
- 符号の説明、1……流路上型、2……流路下型、3……注入口、3'……下型流路、4……排出口、4'……上型流路、5……ガラス基板、6……グルコースセンサー (H₂O₂電極)、7……酵素固定膜。

第1図

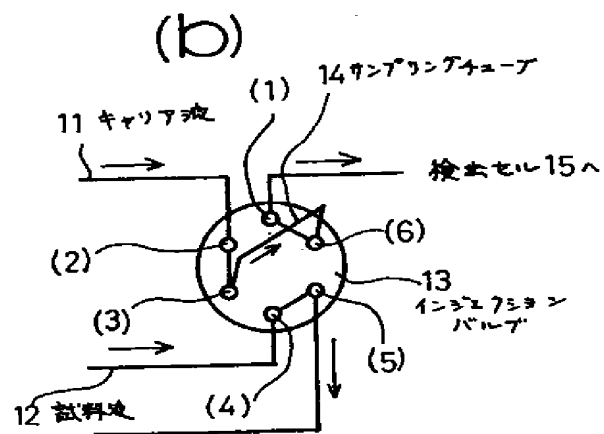
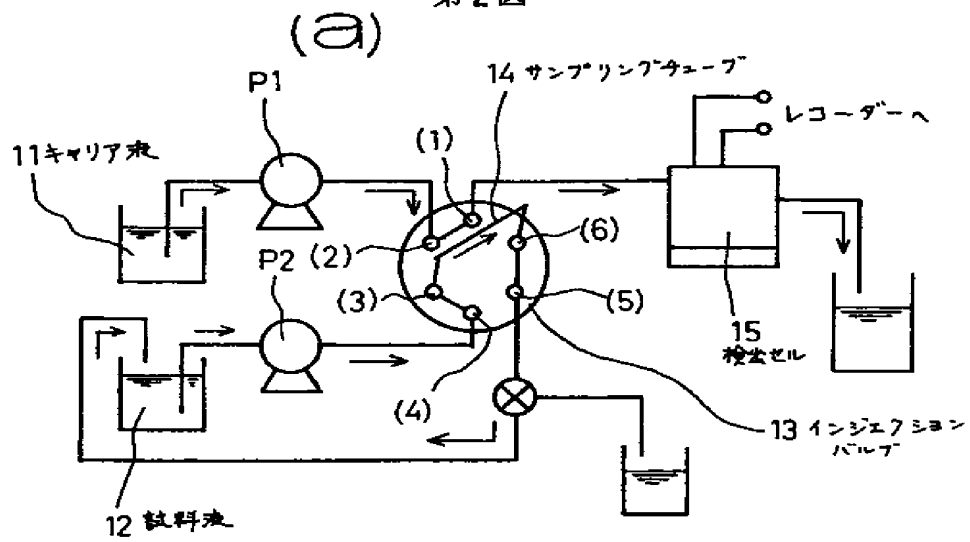
(a)



(b)



第2図



第3図

